

ATRACCIÓN DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE) A TRAMPAS CEBADAS CON CAIROMONAS SINTÉTICAS

Oscar Fernando Mikery-Pacheco¹, Julio Cesar Rojas-León¹, Eduardo Alfonso Rebollar-Téllez² y Alfredo Castillo-Vera¹. ¹Ecología de Artrópodos y Manejo de Plagas, El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Antigua Aeropuerto km 2.5, Tapachula, Chiapas, CP 30700, México. ²Departamento de Zoología de Invertebrados, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, CP 66457, México. omikery@ecosur.edu.mx; rojas@ecosur.mx; eduardo.rebollartl@uanl.edu.mx; acastill@ecosur.mx.

RESUMEN: Estudios sobre cairomonas de flebotomíneos son escasos en México. La atracción de flebotomíneos hacia octenol, ácido láctico, acetato de amonio, ciclopentanona, diclorometano y ácido butírico (usados como cebos en trampas CDC) fue evaluada sobre un transecto lineal de un bosque urbano, aplicando un diseño experimental en cuadrado latino (7 x 7) y usando aceite mineral como diluyente y control. Las especies capturadas fueron *Lutzomyia cruciata* (n = 56), *Lu. c. cayennensis* (n = 12), *Lu. chiapanensis* (n = 4) y *Lu. atulapai* (n = 2). No se observó diferencia entre tratamientos al analizar el total de flebotomíneos capturados. Todos los tratamientos capturaron *Lu. cruciata* y *Lu. c. cayennensis*, pero el único tratamiento que capturo cuatro especies fue la ciclopentanona. Las trampas cebadas con octenol, ácido butírico y acetato de amonio capturaron principalmente hembras, mientras que con ácido láctico, diclorometano y ciclopentanona predominaron machos. Los resultados exhiben la presencia de flebotomíneos en una zona urbana y la necesidad de buscar alternativas para el monitoreo de especies endémicas.

Palabras clave: cairomonas, octenol, ciclopentanona, flebotomíneos, Trampa CDC.

Sandflies (Diptera: Psychodidae) attraction to traps baited with synthetics kairomones

ABSTRACT: Studies about kairomones in sandflies are scarce in Mexico. Sandfly attraction toward octenol, lactic acid, ammonium acetate, cyclopentanone, butyric acid and dichloromethane (used as bait in CDC traps) were evaluated on a linear transect of an urban forest, using a latin square experimental design (7x7) and using mineral oil as a diluent and control. The captured species were *Lutzomyia cruciata* (n=56), *Lu. c. cayennensis* (n=12), *Lu. chiapanensis* (n=4) and *Lu. atulapai* (n=2). No difference was observed between treatments when analyzing the total sandflies captured. All treatments captured *Lu. cruciata* and *Lu. c. cayennensis*, but the only treatment that captured four species was the cyclopentanone. Traps baited with octenol, butyric acid and ammonium acetate mainly captured females, whereas the traps with lactic acid, dichloromethane and cyclopentanone were males. The results exhibit the presence of sandflies in an urban area and the need to find alternatives for monitoring endemic species.

Key words: Kairomones, octenol, cyclopentanone, sandflies, CDC light trap.

Introducción

El entendimiento de los mecanismos comportamentales usados por los insectos hematófagos para encontrar su recurso sanguíneo ha sido limitado a unas cuantas especies de dípteros (Andrade *et al.*, 2008). Estos mecanismos son mediados por aspectos que incluyen señales químicas (semioquímicos) denominadas cairomonas que son liberadas por el huésped vertebrado (Gibson y Torr, 1999). Las cairomonas pueden ser utilizadas para el control y vigilancia de insectos vectores (Logan y Birkett, 2007). Actualmente, las investigaciones sobre respuestas olfatorias de insectos hematófagos al huésped han cobrado importancia. Sin embargo, pocos estudios han sido dirigidos a la búsqueda de las señales del huésped involucradas en la atracción de flebotomíneos (Rebollar-Tellez *et al.*, 1999; Pinto *et al.*, 2001; 2011; Pareja, 2010; Andrade *et al.*, 2008). Entre los compuestos químicos producidos por un huésped que han sido identificados destacan el CO₂, 1-octen-3-ol, ácido láctico, ácido butírico y

amonio como los más importantes para atraer a insectos hematófagos. Sin embargo, dado el carácter generalista de algunos estímulos, es improbable que se capturen individuos de una sola especie, edad o sexo (Ryelandt *et al.*, 2011). Ryelandt *et al.* (2011) mencionan que se requiere que la combinación de elementos que atraen a los artrópodos hematófagos actúe en un mismo contexto biológico, como la búsqueda de hospedero.

Se ha evidenciado que los flebotominos son atraídos a diversos compuestos cairomonales y feromonales (Rebollar-Tellez *et al.*, 1999; Pinto *et al.*, 2001; 2011; Pareja, 2010; Andrade *et al.*, 2008; Bray *et al.*, 2010). Estos compuestos juegan un importante papel para la biología, ecología y sobrevivencia de estas especies. En el presente trabajo se evaluó la atracción de flebotomíneos al 1-octen-3-ol (octenol), ácido láctico, acetato de amonio, ciclopentanona, diclorometano y ácido butírico, que fueron usados como cebos en trampas de luz CDC, que fueron colocadas dentro de un bosque urbano de la ciudad de Tapachula, Chiapas, sin antecedente previos de la presencia de flebotomíneos.

Materiales y Método

Área de estudio. Los experimentos se realizaron en un área arbolada localizada dentro de la ciudad de Tapachula, Chiapas, México (14°53'10.02''N 92°16'36.20''O). No existen antecedentes previos sobre especies de flebotomíneos presentes en esta ciudad, ni tampoco registro de casos clínicos de leishmaniasis. El sitio es parte de las áreas verdes del Instituto Tecnológico de Tapachula, donde se observan algunos acahuales, que han permanecido así por varias décadas (Fig. 1a y b).

Tratamientos. Octenol (98% de pureza, Sigma-Aldrich), ácido láctico (88% de pureza, Sigma-Aldrich), ácido butírico (99% de pureza, Sigma-Aldrich), diclorometano (99.9% de pureza, Aldrich), acetato de amonio (98.1% de pureza, J.T. Baker), ciclopentanona (99% de pureza, Sigma-Aldrich). Se adicionaron 100 µl de compuesto y 100 µl de aceite mineral como agente retardante. En la trampa control se colocaron 100 µl de aceite mineral. La liberación de los compuestos se realizó usando tubos Eppendorf de 2.5 ml con una perforación en la tapa de 3 mm de diámetro. En el interior de los tubos se sumergió un rectángulo de papel filtro de 50x3 mm dentro del compuesto, dejando aproximadamente 5 mm del papel filtro expuesto, para permitir la liberación del compuesto (Fig. 1d). El tubo se sujetó lateralmente a la trampa CDC (Fig. 1c).

Experimento. El experimento se realizó de febrero a abril del presente año y coincidió con la temporada estiaje. Las trampas CDC (Modelo 512; John W. Hock Co., Gainesville, FL, EE.UU.) fueron suspendidas a 50 cm del suelo (Fig. 1c) y colocadas separadamente entre sí por 20 m a lo largo de transecto lineal de 120 m, durante 7 noches no consecutivas, usando un diseño de cuadro latino 7x7, con este diseño se eliminan dos fuentes de variación (día y sitio) que podrían afectar las capturas, incrementando su eficiencia mediante el bloqueo de los días (Odulaja y Abu-Zinid, 1997), el diseño se usó para asegurar que las medias de las capturas fueran consecuencia de cada uno de los tratamientos. Los tratamientos de los siete sitios fueron alternados cada noche. La duración del trapeo fue aproximadamente de dos horas por noche (6:30 - 8:30 P.M.). Los flebotomíneos capturados fueron colocados dentro de viales conteniendo alcohol al 70% y después procesados mediante el método descrito por Ibáñez-Bernal (2005a) para preparaciones permanentes en resina Euparal® (Bioquip Products, CA) y posteriormente identificados morfológicamente usando las claves de Ibáñez-Bernal (1999, 2003, 2005a y b) para Phlebotominae de México.

Análisis estadístico. Las diferencias entre las capturas de flebotomíneos por compuesto por noche, por sitio fueron analizados a través de un ANOVA después de analizar los supuestos para realizar dicha prueba. Se utilizó el software R versión 2.15.3 (R Core Team, 2013).

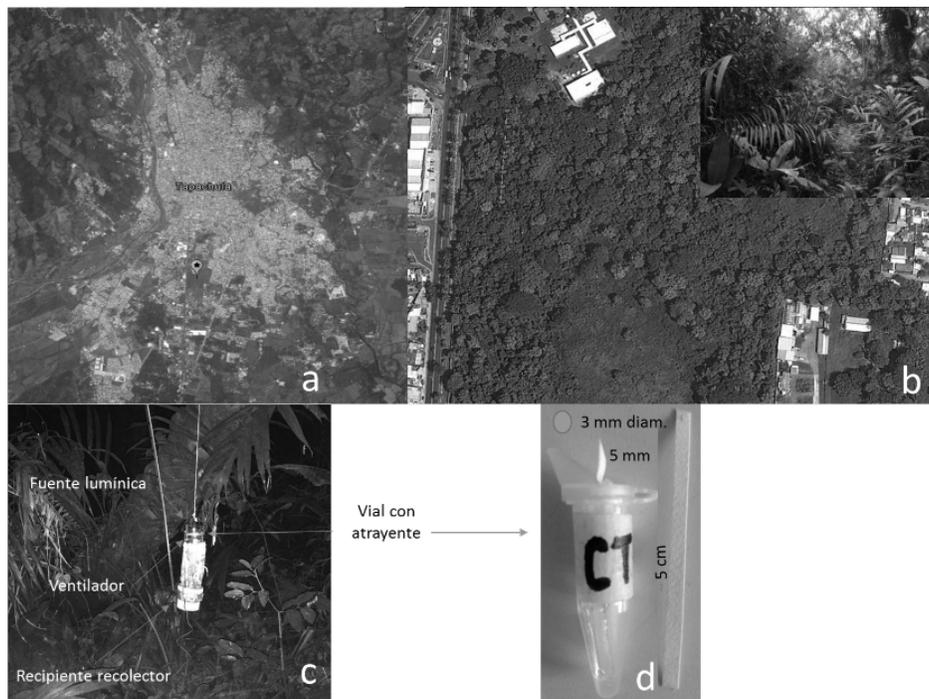


Figura 1. Entorno experimental: a y b) Localización del sitio de estudio, c) Instalación de la trampa CDC en campo, d) Dispensador usado en este estudio.

Resultados y Discusión

En total, las trampas capturaron 74 individuos, 36 machos y 38 hembras, de las especies *Lu. cruciata* (n = 56, 28♂ y 28♀), *Lu. c. cayennensis* (n = 12, 6♂ y 6♀), *Lu. chiapanensis* (n = 4♀) y *Lu. atulapai* (n = 2♂). Las capturas por tratamiento, especies y sexo se muestran en el gráfico 1. En este estudio se reportan por primera vez para la Región Soconusco a las especies *Lu. c. cayennensis*, *Lu. chiapanensis* y *Lu. atulapai*. Solo *Lu. cruciata* ha sido previamente registrada en ecosistemas cafetaleros de dicha Región (Mikery-Pacheco *et al.*, 2012). Las cuatro especies se reportan por primera vez presentes en una zona urbana. De las especies registradas en este estudio, *Lu. cruciata* fue la especie más abundante (Fig. 3; $P < 0.001$). Estos resultados adquieren relevancia por la importancia de esta especie como vector (Pech-May *et al.*, 2010).

El total de flebotomíneos capturados fue similar entre tratamientos y el control ($F = 0.416$, $gl = 6$; $P = 0.864$) (Fig. 2). Parece haber una diferenciación sexual en las capturas de cada tratamiento, puesto que las trampas cebadas con octenol, acetato de amonio y ácido butírico capturaron más hembras que machos, mientras que las trampas con ácido láctico, diclorometano y ciclopentanona fue inverso. *Lu. cruciata* y *Lu. c. cayennensis* fueron capturadas en todos los tratamientos, aunque el octenol capturó solo hembras de ambas especies principalmente de la especie *Lu. cruciata*. No hubo diferencia estadística en la captura de hembras por compuesto ($F = 0.519$, $gl = 6$, $P = 0.79$). Estos resultados concuerdan con los hábitos altamente antropofílicos de *Lu. cruciata* ya que el octenol es uno de los compuestos más probados en dípteros hematófagos (Gibson y Torr, 1999), aunque en flebotomíneos únicamente se ha observado que las especies del Nuevo Mundo responden positivamente a este compuesto (Andrade *et al.*, 2008). En otras especies la respuesta se incrementa con respecto se aumenta la dosis (Magalhães-Junior *et al.*, 2014). Por otra parte, la ciclopentanona es

un compuesto activador de hembras de *Aedes aegypti* (Tauxe *et al.*, 2013). Es la primera vez que se incluye a la ciclopentanona dentro de un estudio de atrayentes para flebotomíneos. Los resultados de este trabajo indican que atrae principalmente machos de *Lu. cruciata* ($P < 0.05$). Las trampas con ciclopentanona capturaron a las cuatro especies identificadas en el presente trabajo (Fig. 2).

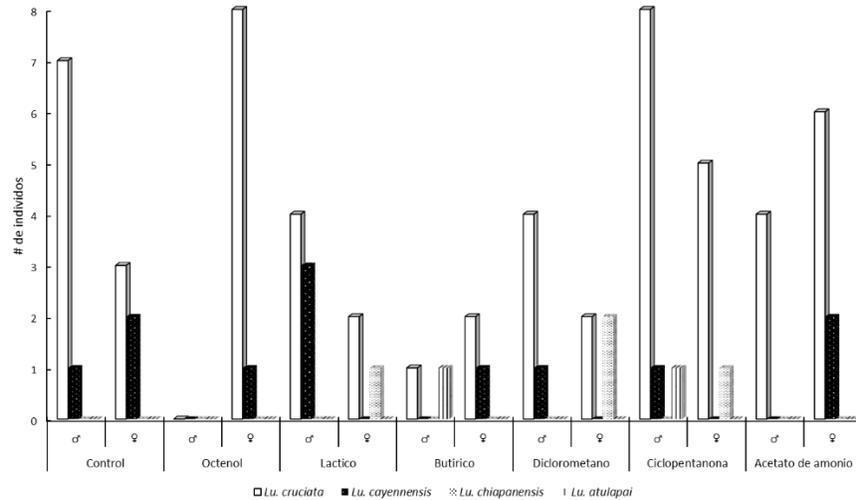


Figura 2. Especies por sexo capturadas en campo.

Lu. c. cayennensis, fue capturada en mayor cantidad en trampa cebada con ácido láctico, donde todos los individuos de esta especie fueron machos (Fig. 1). No se observaron diferencias estadísticas de capturas por sexo por compuesto para esta especie ($P > 0.05$). Los antecedentes que existen sobre esta especie sugieren que se alimenta principalmente de lagartos, y que se le ha encontrado infectada con flagelados y atacando a humanos en Sudamérica (Cocheo *et al.*, 2007), por lo cual podría ser incriminada como vector de *Leishmania* sp.

La trampa cebada con ácido butírico registró la menor captura ($n = 3$), esto puede deberse a varios factores como, su labor en sinergia con otras caimonomas o como inhibidor de los receptores para otras moléculas, por ejemplo, CO_2 (Tauxe *et al.*, 2013). El acetato de amonio es un compuesto empleado como cebo en trampas para moscas de fruta, pero en este estudio se consideró por el componente amonio, dado que el amonio está presente en el sudor humano en forma de sales. En este estudio, la trampa con acetato de amonio capturó hembras en cantidades similares al octenol, específicamente de la especie *Lu. cruciata* y *Lu. c. cayennensis* (Figs. 2 y 3). Similar a lo reportado por Andrade *et al.* (2008), donde capturaron más hembras que machos de *Lu. intermedia* en las trampas cebadas con amonio, difiriendo con *Lu. longipalpis*, donde las hembras fueron más atraídas. Por su parte, las trampas cebadas con ácido láctico capturaron más machos que hembras de las especies *Lu. cruciata* y *Lu. c. cayennensis*, respuesta análoga a las capturas de *Lu. longipalpis* por Andrade *et al.* (2008). Las especies *Lu. chiapanensis* y *Lu. atulapai* no mostraron diferencias estadísticas porque la cantidad de insectos capturados fueron bajas ($P > 0.05$) ($n = 4$ y $n = 2$ respectivamente).

El presente estudio reporta por primera vez la atracción de flebotomíneos hacia compuestos químicos con actividad caimonomal para otras especies de insectos hematófagos. Se incluye por primera vez a la ciclopentanona y diclorometano dentro de una evaluación de atrayentes de flebotomíneos en campo para México. En este trabajo también se detecta por primera vez a las especies *Lu. atulapai*, *Lu. chiapanensis* y *Lu. c. cayennensis* en la región Soconusco y a *Lu. cruciata* en un medio urbano, lo que

demuestra la factibilidad de usar estos atrayentes para el monitoreo de especies endémicas de Chiapas y del resto del país.

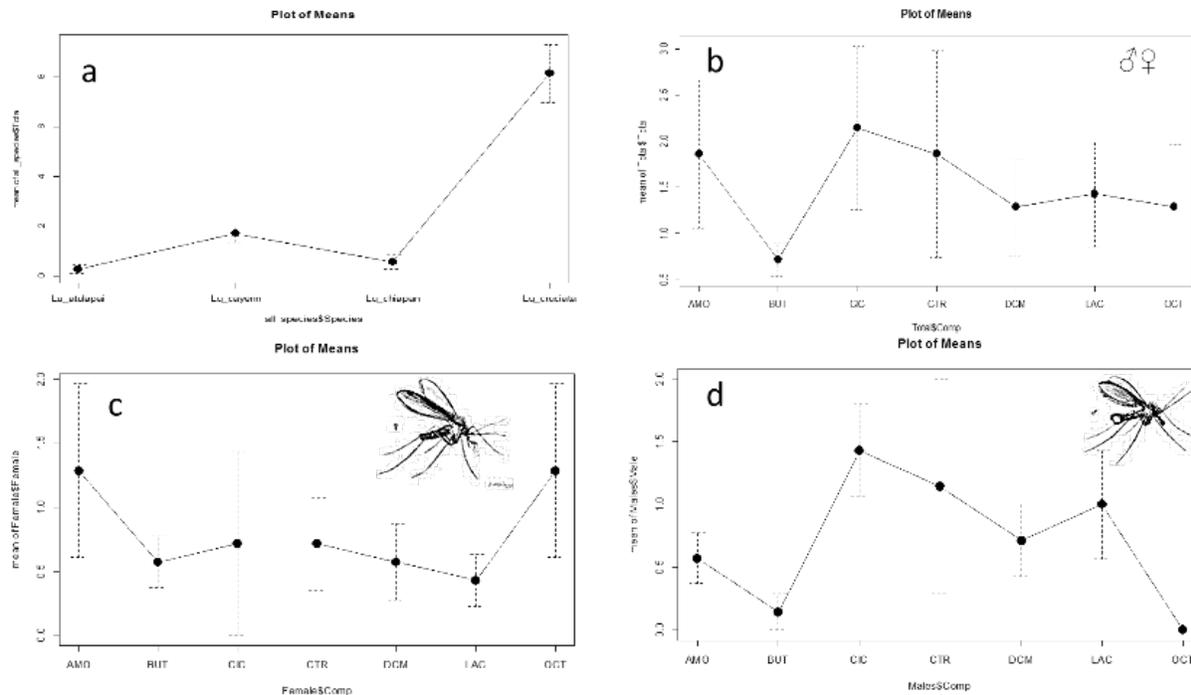


Figura 3. Medias de las capturas de flebotomíneos: **a)** totales por especie (♀♂), **b)** totales por compuesto, **c)** totales de hembras por compuesto, **d)** totales de machos por compuesto.

Agradecimientos

Al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología en Chiapas por el financiamiento del proyecto “Distribución y abundancia de vectores de la Leishmaniasis en zonas cafetaleras del Soconusco” (FOMIX000000000077409).

Literatura Citada

Andrade, A.J., Andrade, M.R., Dias, E.S., Pinto, M.C. and A.E. Eiras. 2008. Are light traps baited with kairomones effective in the capture of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia intermedia*? An evaluation of synthetic human odor as an attractant for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). Mem Inst Oswaldo Cruz, 103: 337-343.

Bray, P.D., Ward, R.D. and J.G.C. Hamilton. 2010. The chemical ecology of sandflies. En Olfaction in vector-host interaction. Takken, W. y B.G.J. Knols (eds.) Ecology and control of vector-borne diseases Vol. 2. Wageningen Academic Publishers. pp. 115-137.

Cochero, S., Anaya, Y., Díaz, Y., Paternina, M., Luna, A., Paternina, L. y E.J. Bejarano. 2007. Infección natural de *Lutzomyia cayennensis cayennensis* con parásitos tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Los Montes de María, Colombia. Rev Cubana Med Trop, 59: 35-39.

Gibson, G. and S.J. Torr. 1999. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. Med Vet Entomol, 13: 2-23.

- Ibáñez-Bernal, S. 1999. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de México. I.- *Bruptomyia* Franca y Parrot; *Lutzomyia* França, las especies de *L. (Lutzomyia)* França y del grupo *Verrucarum*. Folia Entomol Mex, 107: 61-116.
- Ibáñez-Bernal, S. 2003. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de México. IV.- Las especies de *Lutzomyia (Psychodopygus)* Mangabeira, *L. (Micropygomyia)* Barreto, *Lutzomyia* grupo *oswaldoi*, *L. (Helicocyrtomyia)* Barreto y especies del género sin agrupar. Folia Entomol Mex, 42: 109-152.
- Ibáñez-Bernal, S. 2005a. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de México. V.- Clave ilustrada para la identificación de los machos de *Lutzomyia* França. Folia Entomol Mex, 44: 49-66.
- Ibáñez-Bernal, S. 2005b. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de México. VI.- Clave ilustrada para la identificación de las hembras de *Lutzomyia* França. Folia Entomol Mex, 44: 195-212.
- Logan, J.G. and M.A. Birkett. 2007. Semiochemicals for biting fly control: their identification and exploitation. Pest management science, 63: 647-657.
- Magalhães-Junior, J.T., Barrouin-Melo, S.M., Corrêa, A.G., Silva, F.B.R., Machado, V.E., Govone, J.S. and M.C. Pinto. 2014. Laboratory evaluation of alcohols as attractants for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Parasites & Vectors, 7:60-64.
- Mikery-Pacheco, O., Marina-Fernández, C., Ibáñez-Bernal, S., Sánchez-Guillén, D. and A. Castillo-Vera. 2012. Infección natural de *Lutzomyia cruciata* (Diptera: Psychodiade, Phlebotominae) con *Wolbachia* en cafetales de Chiapas, México. Acta Zool Mex, 28: 401-413.
- Odulaja, A. and I.M. Abu-Zinid. 1997. The relative efficiencies of Latin square and randomized complete block designs for insect trapping experiments: an investigation using field data on tsetse flies. Ecol Entomol, 22:184-188.
- Pareja, L.P.X. 2010. Evaluación en laboratorio y campo de semioquímicos como atrayentes en una población de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz y Neiva) (Diptera: Psychodidae) de la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca, Colombia. Tesis de Maestría (Infecciones y Salud en el Trópico). Universidad Nacional de Colombia. Colombia.
- Pech-May, A., Escobedo-Ortegón, F.J., Berzuna-Cruz, M. and E.A. Rebollar-Téllez. 2010. Incrimination of four sandfly species previously unrecognized as vectors of *Leishmania* parasites in Mexico. Med Vet Entomol, 24: 150-161.
- Pinto, M.C., Campbell-Lendrum, D.H., Lozovei, A.L., Teodoro, U. and C.R. Davies. 2001. Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. Med Vet Entomol, 15: 132-139.
- Pinto, M.C., Barbieri, K., Silva, M.C.E., Graminha, M.A.S., Casanova, C., Andrade, A.J. and A.E. Eiras. 2011. Octenol as Attractant to *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the Field. J Med Entomol, 48: 39-44.
- R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rebollar-Téllez, E.A., Hamilton, J.G.C. and R.D. Ward. 1999. Response of female *Lutzomyia longipalpis* to host odour kairomones from human skin. Physiol Entomol, 24: 220-226.
- Ryelandt, J., Noireau, F. and C.R. Lazzari. 2011. A multimodal bait for trapping blood-sucking arthropods. Acta Tropica, 117: 131-136.
- Tauxe, G.M., MacWilliam, D., Boyle, S.M., Guda, T. and A. Ray. 2013. Targeting a dual detector of skin and CO₂ to modify mosquito host seeking. Cell, 155: 1365-1379.